

马艺鸣,刘慧敏,孟鑫,等. 卵巢型子宫内膜异位症大鼠模型的建立与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(7): 947-957.

MA Y M, LIU H M, MENG X, et al. Establishment and evaluation of a rat model of ovarian endometriosis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(7): 947-957.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.07.002

卵巢型子宫内膜异位症大鼠模型的建立与评价

马艺鸣,刘慧敏,孟鑫,齐嘉泽,安铭立,付欣平,陈景伟*

(河北中医药大学,河北省中西医结合肝肾病证研究重点实验室,石家庄 050091)

【摘要】 目的 采用子宫角返折法建立卵巢型子宫内膜异位症(endometriosis, EMS)大鼠模型,评估子宫角返折法建立卵巢型 EMS 大鼠模型的可行性,为探究 EMS 发病机制和治疗方法等提供理想的动物模型。**方法** 将 50 只 SPF 级雌性 SD 大鼠随机分为 5 组,分别为假手术组、术后 1 周组、术后 2 周组、术后 3 周组、术后 4 周组,每组 10 只,除假手术组外采用子宫角返折法建立卵巢型 EMS 模型,分别在术后 1、2、3、4 周观察造模成功率、异位灶体积及质量,初步评价模型。采用苏木素-伊红(HE)染色观察异位灶形态,免疫组化法检测子宫及异位灶组织中增殖细胞核抗原(PCNA)、细胞增殖核抗原(Ki67)、上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)、神经钙黏蛋白(N-cadherin)的表达,进一步评价模型并分析术后不同时间点异位灶细胞增殖及上皮间质转化程度。**结果** 术后 1、2、3、4 周组造模成功率分别为 80%、90%、100%、100%($P > 0.05$)。与术后 1、2 周组相比,术后 3、4 周组异位灶体积明显增大,质量明显增加($P < 0.01$)。HE 染色可见异位灶组织中有子宫内膜上皮细胞、间质细胞和少量腺体。免疫组织化学染色结果显示,与假手术组相比,术后 1、2、3、4 周组大鼠子宫组织中 Ki67、PCNA、N-cadherin 表达水平显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);E-cadherin 表达水平显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与术后 1 周组相比,术后 2、3、4 周组大鼠子宫及异位灶组织中 Ki67、PCNA、N-cadherin 表达水平显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);E-cadherin 表达水平显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 通过子宫角返折法可以建立大鼠卵巢型 EMS 的模型,术后 1 周可以观察到异位灶形成,造模成功率随造模时间延长而提高,于术后 3 周趋于稳定。Ki67、PCNA、N-cadherin 在子宫及异位灶组织中均有显著性表达,表达强度随造模时间延长而递增。E-cadherin 在子宫及异位灶组织中的表达强度随造模时间延长而降低。结果表明,子宫角返折法构建 EMS 大鼠模型成模率高,可作为一种稳定的 EMS 建模方法。

【关键词】 子宫内膜异位症;大鼠;动物模型;返折法

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 07-0947-11

Establishment and evaluation of a rat model of ovarian endometriosis

MA Yiming, LIU Huimin, MENG Xin, QI Jiaze, AN Mingli, FU Xinping, CHEN Jingwei*

(Hebei Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases, Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China)

Corresponding author: CHEN Jingwei. E-mail: chenjingwei@hebcm.edu.cn

【基金项目】 国家自然科学基金(82074483, 82474558), 河北省自然科学基金(H2024423097)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (82074483, 82474558), Natural Science Foundation of Hebei Province (H2024423097).

【作者简介】 马艺鸣,女,硕士,医师,研究方向:女性生殖功能障碍的中医药调控。Email: mym9625@163.com

【通信作者】 陈景伟,女,博士,教授,研究方向:女性生殖功能障碍的中医药调控。Email: chenjingwei@hebcm.edu.cn

[Abstract] Objective To establish a rat model of ovarian endometriosis (EMS) using the horn reversion method, to provide an ideal animal model for exploring the pathogenesis and treatment of EMS. **Methods** Fifty SPF-grade female SD rats were divided randomly into five groups: a sham group, and 1, 2, 3, and 4 weeks after surgery groups, respectively ($n = 10$ rats per group). Apart from the sham group, an ovarian-type EMS model was established in the other groups by the uterine horn refracture method, and the modeling success rate, and ectopic foci volume and mass were observed in each group. The morphology of ectopic foci was observed by hematoxylin-eosin (HE), and expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Ki67, epithelial cadherin (E-cadherin), and neural cadherin (N-cadherin) in the uterus and ectopic foci tissues were detected by immunohistochemistry. The model was further evaluated and the degree of cell proliferation and epithelial mesenchymal transformation at different times after modeling were analyzed. **Results** The modeling success rates in the 1, 2, 3, and 4 weeks after surgery groups were 80%, 90%, 100%, and 100%, respectively ($P > 0.05$). The volume and mass of the ectopic foci were significantly greater in the 3 and 4 weeks after surgery groups compared with the 1 and 2 weeks after surgery groups ($P < 0.01$). HE staining showed endometrial epithelial cells, mesenchymal cells and a few glands in the ectopic foci tissues. Immunohistochemical staining showed that expression levels of Ki67, PCNA, and N-cadherin in uterus tissues were significantly higher ($P < 0.05$, $P < 0.01$) in all the model groups compared with the sham group, while expression levels of E-cadherin were significantly lower ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Expression levels of Ki67, PCNA, and N-cadherin in the uterus and ectopic foci tissues were significantly higher ($P < 0.05$, $P < 0.01$) in the 2, 3, and 4 weeks after surgery groups compared with the 1 week after surgery group, while expression levels of E-cadherin were significantly lower ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** The uterine horn reversion method can be used to establish an ovarian EMS model in rats. Ectopic lesions can be observed 1 week after surgery. The success rate of modeling increases with modeling time, stabilizing at 3 weeks postoperatively. Ki67, PCNA, and N-cadherin were significantly expressed in the uterus and ectopic foci tissues, and their expression levels increased with modeling time, while E-cadherin expression in the uterus and ectopic foci tissues decreased with modeling time. These results showed good modeling success of the EMS rat model, suggesting that it could be used as a stable EMS modeling method.

[Keywords] endometriosis; rat; animal model; horn resersion method

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

子宫内膜异位症(endometriosis, EMS)简称内异症,是指具有生长功能的子宫内膜组织在子宫腔以外的部位生长。临床上主要以痛经、慢性盆腔痛、性交痛、不孕等为主要特征,在育龄期女性中发病率为 10% ~ 15%^[1],并呈现逐年升高的趋势,严重影响了患者的生活质量。EMS 发病机制尚未完全阐明,涉及细胞增殖、侵袭、黏附及血管生成等多个生物学过程。细胞增殖核抗原(kiel antigen 67, Ki67)作为一种细胞核蛋白质,其表达水平与细胞增殖活性密切相关,是评估细胞增殖速率的重要指标^[2]。已有研究报道在 EMS 中 Ki67 阳性细胞比例显著升高^[3]。增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)参与 DNA 损伤修复机制,维持基因组稳定性,其表达水平与细胞增殖状态呈正相关。在 EMS 病灶中,PCNA 表达显著升高,参与 EMS 疾病的发生发展^[4]。上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)、神经钙

黏蛋白(N-cadherin)是诱导发生上皮间质转化的关键因子,而上皮间质转化是 EMS 病灶形成的重要机制。E-cadherin 缺失导致细胞间黏附减弱,促进异位内膜细胞脱离原发部位,侵袭周围组织,而 N-cadherin 的高表达可能增强异位内膜细胞的迁移能力,促进病灶播散^[5-6]。在 EMS 中,异位病灶中的 E-cadherin 表达显著低于在位内膜及正常子宫内膜,然而异位病灶中的 N-cadherin 表达显著升高,二者表达呈负相关^[7]。

EMS 动物模型是研究 EMS 发病机制、病理变化的前提,因此 EMS 的模型应具备与临床症状相符并且造模率高的要求^[8]。现有的 EMS 动物模型大多是通过自体移植法、异种移植法、注射法等来建立 EMS 模型^[9]。课题组长期从事 EMS 发病机制研究,本研究采用子宫角返折法建立卵巢型 EMS 大鼠模型,在术后不同时间点通过病灶的体积、质量及病理学形态变化评估该模型建立的

可能性,在此基础上,观察子宫及异位灶组织 Ki67、PCNA、E-cadherin 及 N-cadherin 的表达水平以评估细胞增殖能力及上皮间质转化能力,为进一步探究 EMS 的发病机制及药物治疗提供可靠的动物模型。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

6 周龄 SPF 级雌性 SD 大鼠 50 只,体质量 180 ~ 200 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司【SCXK(京)2019-0010】,动物饲养在河北中医药大学实验动物中心【SYXK(冀)2022-010】,期间给予标准颗粒饲料,自由取水,室温 21 ~ 22 ℃,湿度 30% ~ 70%,光照明暗各 12 h,适应性喂养 1 周,本实验涉及动物操作程序均获得河北中医药大学实验动物伦理委员会批准(DWLL2020031)。

1.1.2 主要试剂与仪器

戊酸雌二醇片(拜耳医药保健有限公司广州分公司,批号:742A),庆大霉素注射液(天津金耀药业有限公司,批号:2204301),异氟烷(瑞沃德公司,批号:20231201),E-cadherin 多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:20874-1-AP),N-cadherin 多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:22018-1-AP),PCNA 多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:10205-2-AP),Anti-Ki67 兔抗体(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号:GB111499-100),免疫组化检测试剂盒(北京中杉金桥,货号:PV-9000),DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥,货号:ZLI-9018),Mayer 苏木素染色液(Solarbio,货号:240007005)。

小动物麻醉机(MIDMARK,VMR 型),显微镜(尼康,Digital Sight 10)。

1.2 方法

1.2.1 造模方法

将 50 只 SPF 级雌性 SD 大鼠随机分为 5 组,分别为假手术组、术后 1 周组、术后 2 周组、术后 3 周组、术后 4 周组,每组 10 只。其中除假手术组外,其余 4 组均进行手术造模。造模前 3 d 灌胃戊酸雌二醇 1 mg/kg,每日一次,以统一动情周期。手术全程在小动物麻醉机下完成,采用异氟烷持续吸入的方式麻醉大鼠,麻醉成功后,取大

鼠仰卧位固定大鼠四肢于手术台上,碘伏消毒下腹部皮肤,于尿道口上方 2 cm 处沿腹中线纵行切开,逐层分离皮肤和脂肪,找到大鼠 Y 型子宫角的左侧子宫角,将左侧子宫角于距离卵巢 1.5 cm 处用可吸收线结扎剪断,沿子宫角上缘纵行切开,将纵行切开的子宫返折覆盖在卵巢表面,确保子宫内膜面与卵巢充分接触,用可吸收线将子宫与卵巢缝合在一起,腹腔注射庆大霉素 1.5 mL 后逐层关腹,整个操作过程 5 min 之内完成。分别于术后 1、2、3、4 周对术后 1 周组、术后 2 周组、术后 3 周组、术后 4 周组的大鼠进行开腹观察并取其病灶,结束后对大鼠进行安乐死。假手术组开腹找子宫后常规关腹,于术后第 4 周处理。

1.2.2 组织收集与处理

分别于术后 1、2、3、4 周采用 2% 戊巴比妥钠溶液 45 mg/kg 行腹腔注射麻醉,麻醉成功后碘伏消毒腹部皮肤,沿大鼠腹部正中线剪开,观察异位灶的形态与大小并称重,在 0.9% 氯化钠溶液中分离脂肪。取异位灶和对侧正常子宫置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h,常规脱水,石蜡包埋,3 μm 切片,进行后续实验。

1.2.3 建模成功标准

肉眼可见移植物生长,移植物形成透明、半透明囊肿或紫蓝色结节,囊泡内有清晰透亮的液体形成,其表面有血管生成,镜下病理检查可观察到子宫内膜上皮基质细胞、间质细胞及腺体,与在位内膜相似,内膜上皮呈立方状或柱状,腔内有分泌物沉积^[10]。

1.2.4 观察指标

(1)异位灶大体观察:造模成功后,分别于术后 1、2、3、4 周开腹观察异位灶的生长情况并记录异位灶大小,对其进行称重。测量异位灶的长、宽、高,按公式计算异位灶体积($V = 0.52 \times \text{长} \times \text{宽} \times \text{高}$ ^[11])。并用电子天平称量异位灶质量。

(2)组织学形态观察:将取出的异位灶和子宫标本用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋切片,苏木素-伊红(HE)染色,在显微镜下观察异位灶及子宫组织形态学变化。

(3)免疫组化染色:采用免疫组化检测子宫及异位灶中 Ki67、PCNA、E-cadherin 和 N-cadherin 的表达。烤片 3 ~ 4 h 后,用二甲苯脱蜡,PBS 洗

5 min × 3 次,柠檬酸钠抗原修复 20 min 后晾至室温, PBS 洗 5 min × 3 次。10% 山羊血清封闭 30 min, 分别滴加一抗 Ki67 (1 : 100)、PCNA (1 : 100)、E-cadherin (1 : 2000)、N-cadherin (1 : 200), 4 ℃ 过夜。次日晾至室温后, PBS 清洗, 滴加兔二抗, DAB 显色, 苏木素复染细胞核, 盐酸瞬时分化, 乙醇梯度脱水, 滴加中性树胶封片后在显微镜下观察阳性表达。采用 Image J 1. 54f 分析图像, 阳性表达呈棕黄色颗粒, 每张切片选取 3 个视野, 计算增殖指数及平均光密度值。增殖指数 (%) = 阳性细胞数/细胞总数 × 100%, 以平均光密度 (mean IOD) 值作为该图像阳性表达的定量标准, 平均光密度 (mean IOD) = 累积光密度 (sum IOD)/阳性区域面积 (AOI)。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 23.0 统计软件分析数据。计量资料以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 来表示, 满足正态性与方差齐性检验数据采用单因素方差分析, 两两比较用 LSD 法。不满足正态性与方差齐性检验

采用多个独立样本非参数秩和检验, 计数资料以率 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠动情周期观察

SD 雌性大鼠动情周期为 4 ~ 5 d, 分 4 个阶段: 每个阶段阴道脱落细胞的特点如下: (1) 动情前期: 大量有核椭圆形上皮细胞和少量无核角化细胞; (2) 动情期: 大量不规则形的无核角化细胞, 似落叶堆积状, 兼少量有核上皮细胞; (3) 动情后期: 有有核上皮细胞、无核角化细胞和白细胞, 且比例相当; (4) 动情间期: 大量白细胞, 兼少量扁平有核上皮细胞 (图 1)。

2.2 造模成功率

根据建模成功标准评定, 造模成功率 = 移植成功数/鼠数 × 100%。结果显示术后 1、2、3、4 周组造模成功率分别为 80%、90%、100%、100% ($P > 0.05$) (表 1)。

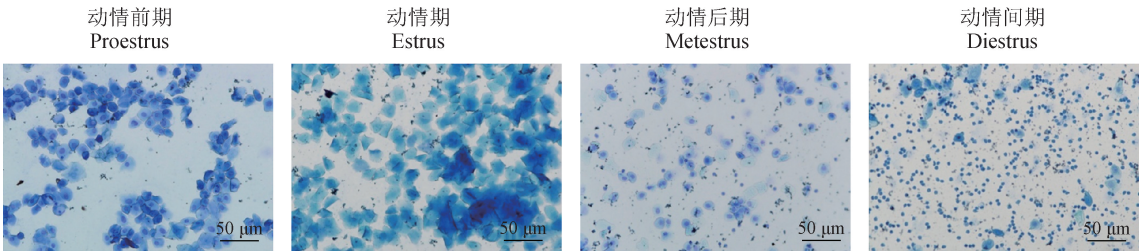


图 1 大鼠动情周期阴道脱落细胞染色 (美兰染色)

Figure 1 Staining of vaginal exfoliated cells during the estrous cycle in rats (Methylene blue staining)

2.3 大体观察

2.3.1 异位灶形态

异位灶的形态大小具有多样性, 其颜色、囊泡透亮程度、血管分布情况及与周围组织的粘连程度随着造模周期的延长发生相应变化。术后 1 周组可见异位灶与卵巢包裹紧密, 体积较小, 囊肿呈褐色, 质地较硬, 与周围组织粘连较少, 有少量脂肪包裹, 无明显血管形成。术后 2 周组可见异位灶体积增大, 表面呈红色或深红色, 内含浑浊液体, 表面有少量血管密集, 与周围组织粘连, 易剥离。术后 3、4 周组异位灶大小与前 2 周相比显著增大, 肉眼可见透亮的囊泡, 内含透亮液体, 表面有大量血管密集, 与周围组织明显粘连, 外

表 1 造模成功率 (n = 10)

Table 1 Success rate of modeling (n = 10)

组别 Groups	成功例数/n Number of success/n	造模成功率/% Modeling success rate/%
术后 1 周组 1 week after surgery group	8	80
术后 2 周组 2 weeks after surgery group	9	90
术后 3 周组 3 weeks after surgery group	10	100
术后 4 周组 4 weeks after surgery group	10	100

层大量脂肪包裹, 不易剥离 (图 2)。



图 2 术后不同时期异位灶生长特点

Figure 2 Growth characteristics of ectopic foci in different postoperative periods

2.3.2 异位灶体积及质量

随着造模周期的延长,大鼠异位灶体积和质量不断发生变化,术后 1、2、3、4 周组的体积及质量显著增加($P < 0.01$),术后 1、2 周组的体积

及质量之间相比无显著变化($P > 0.05$),术后 3、4 周组的体积及质量之间相比无显著变化($P > 0.05$)。与术后 1、2 周组相比,术后 3、4 周组异位灶体积及质量明显升高($P < 0.01$)(表 2)。

表 2 术后不同时间异位灶体积、质量、形态、颜色、粘连和血管生成情况比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of ectopic foci volume, mass, morphology, color, adhesion and angiogenesis at different time after surgery($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	异位灶体积/mm ³ Ectopic foci volume/mm ³	异位灶质量/mg Ectopic foci mass/mg	异位病灶形态及颜色 Morphology and color of ectopic foci	粘连及血管生成 Adhesion and angiogenesis
术后 1 周组 1 week after surgery group	308.57 ± 209.74	115.11 ± 62.67	棕色或褐色,浑浊囊泡 Brown, turbid vesicles	无粘连,无明显血管生成 No adhesion, no obvious angiogenesis
术后 2 周组 2 weeks after surgery group	396.14 ± 238.18	228.40 ± 97.79	红色,浑浊囊泡 Red, turbid vesicles	粘连较致密,易剥离,血管较丰富 Adhesion is dense, easy to peel, the blood vessels are abundant
术后 3 周组 3 weeks after surgery group	2332.62 ± 852.09**	1024.56 ± 236.47**	透亮囊泡 Clear vesicles	粘连致密,不易剥离,血管丰富 Dense adhesion, not easy to peel, rich blood vessels
术后 4 周组 4 weeks after surgery group	1909.37 ± 1565.13**	1319.95 ± 952.77**	透亮囊泡 Clear vesicles	粘连致密,不易剥离,血管丰富 Dense adhesion, not easy to peel, rich blood vessels

注:与术后 1 周组相比, ** $P < 0.01$ 。(下表同)
Note. Compared with 1 week after surgery group, ** $P < 0.01$. (The same in the following tables)

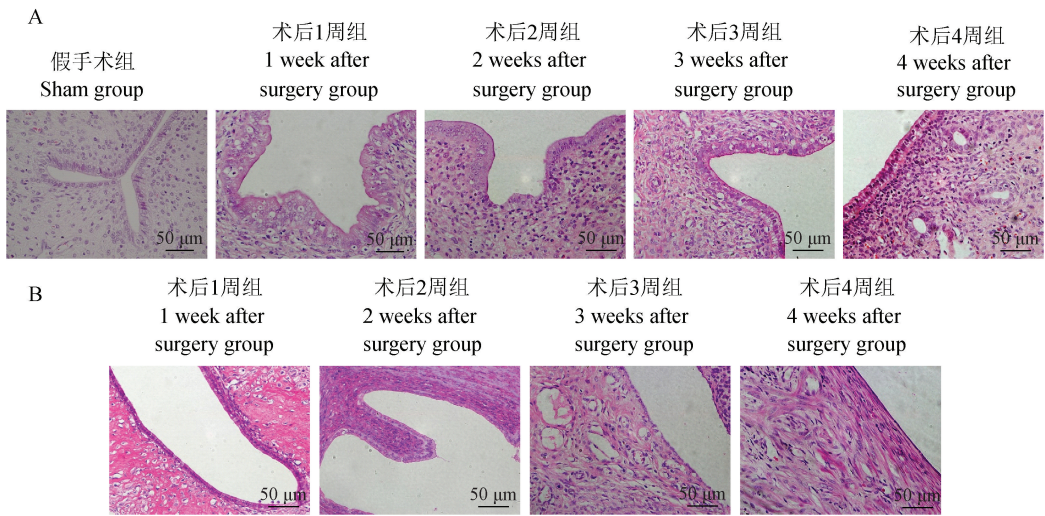
2.4 HE 染色结果

HE 染色结果显示异位灶组织中包裹着卵巢,低倍镜下:异位灶由内向外依次可见上皮细胞层、间质细胞和肌层,腺体数量明显减少,镜下还可见核下空泡,腔外壁覆盖一层纤维结缔组织,层次不清与间质和肌层交叉在一起。在高倍镜下:异位灶上皮细胞以柱状细胞或立方形细胞为主,排列整齐,部分呈锯齿状分布生长,间质层

可见新生血管生成(图 3)。

2.5 免疫组化染色结果

Ki67 主要表达于腺上皮和腺体的细胞核及细胞间质中,PCNA 主要定位于子宫内膜上皮细胞和腺体细胞的胞核中,胞质内有少量的表达。E-cadherin 在腺上皮细胞的胞浆和胞膜中表达,N-cadherin 主要定位于子宫内膜腺上皮细胞膜及胞质。与假手术组相比,术后 1、2、3、4 周组大鼠



注:A:子宫;B:异位灶。
图 3 大鼠子宫和异位灶组织 HE 染色结果

Note. A. Uterus. B. Ectopic foci.
Figure 3 HE staining results of uterus and ectopic foci tissues of rats

子宫组织中 Ki67、PCNA、N-cadherin 表达水平显著升高 ($P < 0.05, P < 0.01$); E-cadherin 表达水平显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$) (图 4, 表 3)。与术后 1 周组相比, 术后 2、3、4 周组大鼠的子宫及异位灶组织中 Ki67、PCNA、N-cadherin 表达水平显著升高 ($P < 0.05, P < 0.01$); E-cadherin 表达水平则显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$) (图 5, 表 4)。

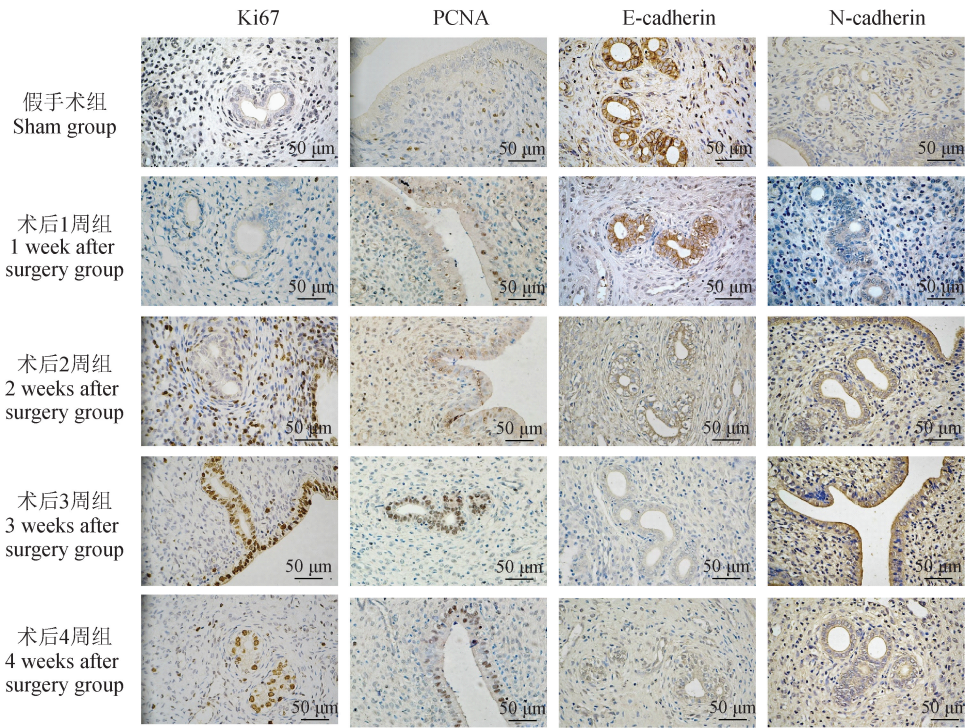


图 4 Ki67、PCNA、E-cadherin、N-cadherin 在大鼠子宫组织中的表达 (免疫组化染色)
Figure 4 Expression of Ki67, PCNA, E-cadherin, N-cadherin in rat uterus tissues (immunohistochemical staining)

表 3 子宫组织中 Ki67、PCNA、E-cadherin、N-cadherin 增殖率及平均光密度值的表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Expression levels of Ki67, PCNA, E-cadherin, N-cadherin proliferation rate and mean optical density values in uterus tissues($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	Ki67	PCNA	E-cadherin	N-cadherin
假手术组 Sham group	6.24 ± 2.14	23.16 ± 1.43	0.73 ± 0.01	0.19 ± 0.05
术后 1 周组 1 week after surgery group	9.71 ± 0.62 ^{##}	33.85 ± 4.05 ^{##}	0.51 ± 0.03 ^{##}	0.22 ± 0.04
术后 2 周组 2 weeks after surgery group	13.11 ± 0.46 ^{**##}	36.45 ± 3.80 ^{##}	0.26 ± 0.01 ^{*##}	0.27 ± 0.01 ^{**}
术后 3 周组 3 weeks after surgery group	16.80 ± 0.83 ^{**##}	44.27 ± 2.44 ^{**##}	0.22 ± 0.02 ^{**##}	0.31 ± 0.04 ^{**##}
术后 4 周组 4 weeks after surgery group	19.72 ± 1.32 ^{**##}	41.74 ± 3.24 ^{**##}	0.19 ± 0.03 ^{**##}	0.34 ± 0.03 ^{**##}

注：与术后 1 周组相比，* $P < 0.05$ ；与假手术组相比，[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ 。（下表同）
Note. Compared with 1 week after surgery group, * $P < 0.05$. Compared with the sham group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$. (The same in the following tables)

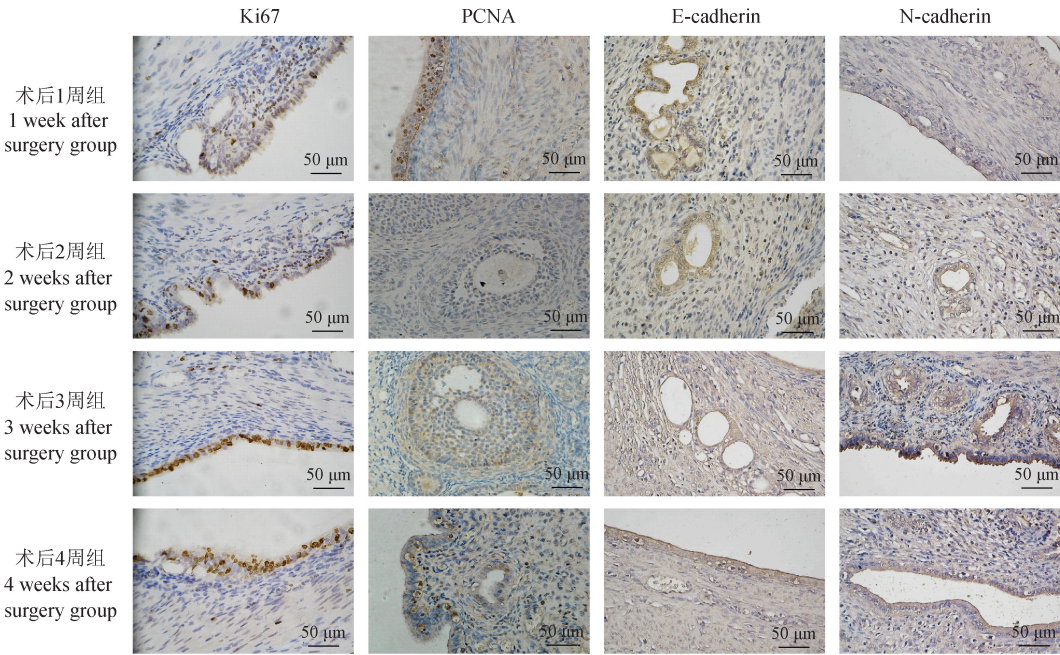


图 5 Ki67、PCNA、E-cadherin、N-cadherin 在大鼠异位灶组织中的表达(免疫组化染色)

Figure 5 Expression of Ki67, PCNA, E-cadherin, N-cadherin in rat ectopic foci tissues(immunohistochemical staining)

表 4 异位灶组织中 Ki67、PCNA、E-cadherin、N-cadherin 的增殖率及平均光密度值的表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Expression levels of Ki67, PCNA, E-cadherin and N-cadherin in ectopic foci tissues in terms of proliferation rate and mean optical density values($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	Ki67	PCNA	E-cadherin	N-cadherin
术后 1 周组 1 week after surgery group	2.19 ± 0.18	31.19 ± 11.70	0.37 ± 0.06	0.18 ± 0.04
术后 2 周组 2 weeks after surgery group	4.06 ± 0.31 [*]	46.32 ± 5.62	0.28 ± 0.07 [*]	0.24 ± 0.04
术后 3 周组 3 weeks after surgery group	6.27 ± 0.56 ^{**}	61.34 ± 11.51 ^{**}	0.23 ± 0.03 ^{**}	0.33 ± 0.04 [*]
术后 4 周组 4 weeks after surgery group	12.03 ± 1.61 ^{**}	53.09 ± 12.33 [*]	0.20 ± 0.01 ^{**}	0.37 ± 0.09 ^{**}

3 讨论

随着对 EMS 研究的不断深入,不少学者针对 EMS 的病理机制提出了多种假说,如血流-淋巴散播学说、体腔上皮化生学说、免疫学说、遗传学说等^[12]。其中以 SAMPSON^[13] 提出的“经血逆流学说”被大家广泛认可。目前 EMS 动物模型中,只有灵长类动物因和人的月经周期特点相似而会自发形成 EMS,但因其价格昂贵、物种稀少、造模成功率等原因,难以在实验研究领域推广^[14]。而啮齿类动物因价格低廉、容易获得、造模周期短且成功率高等优势逐渐成为实验研究的首选。常用的啮齿类造模方法主要分为异种移植法、注射法、同种移植法(同种异体移植、同种自体移植)等 3 类^[15],异种移植是将人的子宫内膜移植到小鼠体内,虽符合人类的组织形态变化且能够更好地模拟临床上 EMS 的形成,但因物种差异会出现排异反应,因此多选取具有免疫缺陷功能的裸鼠作为研究对象,但其缺点是缺陷小鼠饲养条件高、抵抗力差,人子宫内膜组织在裸鼠体内存活率低,无法用于炎症、免疫缺陷等发病机制方面的研究^[16-17]。腹腔注射法是将供体小鼠子宫组织碎片注射到受体小鼠腹腔,优点是避免了手术所带来的创伤性,降低感染风险,缺点是无法保证造模成功率^[18]。HAYASHI 等^[19] 采用同种异体移植法将供体小鼠的子宫碎片注射到受体小鼠的卵巢中,然后将带有子宫颗粒的卵巢推回腹腔,进而获得卵巢型子宫内膜异位症小鼠模型,结果发现造模后 1 ~ 2 周模型尚未成功,造模第 4 周后成功率仅为 85.7%。此种造模方法的缺点是造模周期长、成功率低、操作复杂。本研究采用成熟雌性 6 周龄 SD 大鼠,价格低廉、容易饲养、重复性好。并于造模前统一动情周期,采用自体移植方法,沿子宫角上缘纵行切开,返折覆盖在卵巢表面,确保子宫内膜面与卵巢充分接触。该造模方法具有以下特点与优势:(1)造模前人为地采用雌激素使大鼠的动情周期一致化,以确保病灶在大鼠体内同步化生长;(2)模拟了卵巢型 EMS 的形成路径;(3)造模过程时间短、操作步骤简单易行,术中出血少,提高了造模后存活率,大大增加了造模成功率。为后续开展卵巢型 EMS 病理过程提供了一种简便可行的造模

方法。但同时也存在一定缺陷:如人类 EMS 疾病是一个长期形成的过程,伴随炎症、粘连和神经浸润等慢性变化,本动物模型在短期内即形成病灶,缺乏对疾病长期进展的动态观察,后期可进一步完善本模型。

HE 染色是一种常见的观察组织形态结构变化的染色方法,本研究结果表明,术后 1 周异位灶就已形成,子宫内膜组织层次分明,腺体结构完整,数量减少,在术后 3 ~ 4 周,异位灶的体积及质量显著增加并趋于稳定,并伴有新生血管生成,细胞增殖达到高峰,符合 EMS 的发生发展情况。

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指具有上皮组织形态的细胞获得间质细胞的表型,从而使细胞迁移及游走能力增强的过程。研究认为 EMT 与 EMS 发病机制有关,参与细胞及组织粘附、侵袭和增殖等一系列过程^[20]。当子宫内膜细胞发生 EMT 时,细胞失去极性,重组细胞骨架,细胞的侵袭性增强从而子宫内膜细胞异位生长^[21]。E-cadherin、N-cadherin 分别是上皮细胞、间质细胞标志物,EMT 的主要特征表现为 E-cadherin 的表达水平降低,而 N-cadherin 的表达水平升高。E-cadherin 在维持上皮细胞形态及组织结构完整中发挥重要作用,N-cadherin 蛋白阳性表达可能使癌细胞更容易获得运动及浸润的能力^[22-23]。临床研究表明 E-cadherin 在卵巢型 EMS 在位、异位组织的表达显著低于正常子宫内膜组织^[24]。研究发现临床上深部结节性 EMS 患者的病灶存在由上皮到间充质转变的特征,在 EMS 病变中通常观察到 E-cadherin 表达降低和 N-cadherin 表达增加,导致细胞黏附减少,细胞迁移和侵袭增加^[25-26]。本研究发现,与术后 1 周相比,术后 3、4 周大鼠子宫和异位灶组织中 E-cadherin 的表达显著降低, N-cadherin 表达显著升高,推理其可能的病理变化是:随着造模周期的延长,子宫内膜细胞黏附力下降,具有上皮细胞特性的细胞逐渐转化为间质细胞,推动了 EMT 的发生,伴随细胞增殖和大量血管新生,大鼠子宫、异位灶组织增殖、迁移的病理过程也随之增加,加速了 EMS 疾病的进展。

EMS 疾病的发展伴随着大量细胞和组织的增殖,细胞和组织的增殖能力是反映 EMS 形成的

重要关键因素,增殖能力越强,就意味着疾病的进程越快^[27]。PCNA 是一种与细胞周期相关的酸性核蛋白,在细胞增殖时期 G1 后期开始升高, G1/S 期时达到顶峰,能与 DNA 聚合酶 δ 的辅助蛋白结合,是反映细胞增殖活性的有效指标^[28-29]。Ki67 与 PCNA 是调控细胞增殖的关键因子,参与并调控细胞周期过程,主要在细胞核里表达,少量在细胞质里表达。其表达升高代表细胞分裂速度活跃,增殖能力增强^[30-31]。临床研究发现,在位、异位组织中的 Ki67 水平明显高于正常内膜,具有显著性差异,且异位内膜表达高于在位内膜,说明异位内膜细胞可能通过逃避细胞凋亡,使其继续存活、种植,促进细胞增殖,从而导致 EMS 的发生发展^[32]。研究证明在 EMS 大鼠模型中 PCNA 和 Ki67 的表达显著升高,这意味着两种增殖抗原蛋白都参与 EMS 的形成^[33-34]。本研究发现,与造模后 1 周相比,造模后 3、4 周大鼠子宫、异位灶组织中的 PCNA 和 Ki67 的表达显著增强,表明在造模后 3 ~ 4 周内,异位灶细胞分裂和增殖的能力不断增强,促进了 EMS 的发生发展。

综上所述,本研究采用子宫角返折法成功构建了卵巢型 EMS 大鼠模型,具有操作方法简便快捷、造模周期短且成功率高的特点。移植后的子宫内膜仍然保持了子宫内膜间质和腺体的组织学形态,具有较强的增殖活性及上皮间质转化能力,与本病的病理特点一致。本研究为卵巢型 EMS 的病理机制研究、新药研发等提供了较为理想的动物模型。

参 考 文 献 (References)

- [1] CZYZYK A, PODFIGURNA A, SZELIGA A, et al. Update on endometriosis pathogenesis [J]. *Minerva Ginecol*, 2017, 69(5): 447-461.
- [2] 吴联平,林玉琼,林清华. 不同克隆号 Ki67 在不同肿瘤组织上的表达差异性研究 [J]. *中华灾害救援医学*, 2025, 13(1): 26-30.
WU L P, LIN Y Q, LIN Q H. Study on the differential expression of Ki67 clones in different tumor tissues [J]. *Chin J Dis Med*, 2025, 13(1): 26-30.
- [3] 尚丽,杜二球,李咏梅,等. 子宫内膜异位症患者子宫上皮 Survivin 和 Ki67 的表达与细胞凋亡的相关性 [J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(1): 25-28.
SHANG L, DU E Q, LI Y M, et al. Correlation between the expression of Survivin and Ki67 in uterus epithelium and apoptosis in patients with endometriosis [J]. *Int J Lab Med*, 2019, 40(1): 25-28.
- [4] LIU H, SUN X, ZHAO Y, et al. Anti-angiogenesis effect and mechanism study of Huangzhi Neiyi capsule in a rat endometriosis model [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(1): 300060519899767.
- [5] TANIA M, KHAN M A, FU J. Epithelial to mesenchymal transition inducing transcription factors and metastatic cancer [J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(8): 7335-7342.
- [6] CHEN J, YUAN W, WU L, et al. PDGF-D promotes cell growth, aggressiveness, angiogenesis and EMT transformation of colorectal cancer by activation of Notch1/Twist1 pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(6): 9961-9973.
- [7] LUO Y, WANG D, CHEN S, et al. The role of miR-34c-5p/Notch in epithelial-mesenchymal transition (EMT) in endometriosis [J]. *Cell Signal*, 2020, 72: 109666.
- [8] 陈元欢,毛海燕,武权生,等. 子宫内膜异位症病证结合大鼠模型研究进展 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(12): 4470-4475.
CHEN Y H, MAO H Y, WU Q S, et al. Research progress of rat model with endometriosis syndrome and disease combination [J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2021, 23(12): 4470-4475.
- [9] 陈元欢,武权生,周小静,等. 子宫内膜异位症动物模型建立方法 [J]. *医学综述*, 2021, 27(16): 3221-3225.
CHEN Y H, WU Q S, ZHOU X J, et al. Establishment methods of animal models of endometriosis [J]. *Med Recapitul*, 2021, 27(16): 3221-3225.
- [10] 李龙卫,王艳云,陈琦,等. 提高大鼠子宫内膜异位症建模成功率的新方法 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(3): 81-85.
LI L W, WANG Y Y, CHEN Q, et al. A new method for improving the success rate of the establishment of endometriosis models in rats [J]. *Chin J Comp Med*, 2016, 26(3): 81-85.
- [11] 何嫣,曾金凤,刘玉环. 子宫内膜异位症大鼠模型自体移植部位的比较 [J]. *第二军医大学学报*, 2016, 37(4): 513-516.
HE Y, ZENG J F, LIU Y H. Comparison of autotransplantation sites in endometriosis rat model [J]. *Acad J Second Mil Med Univ*, 2016, 37(4): 513-516.
- [12] 厉莎,王良. 子宫内膜异位症的相关研究进展 [J]. *中外医学研究*, 2024, 22(30): 166-170.
- [13] LI S, WANG L. Research progress of endometriosis [J]. *Chin Foreign Med Res*, 2024, 22(30): 166-170.
- [13] SAMPSON J A. Metastatic or embolic endometriosis, due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the

- venous circulation [J]. *Am J Pathol*, 1927, 3(2): 93–110.
- [14] 孟鑫, 陈景伟. 子宫内膜异位症小鼠模型研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(6): 857–863.
- MENG X, CHEN J W. Research progress in a mouse model of endometriosis [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(6): 857–863.
- [15] 吉秀家, 黄灿灿, 毛海燕, 等. 子宫内膜异位症纤维化小鼠模型的建立和表型验证 [J]. *中国兽医杂志*, 2023, 59(10): 22–30.
- JI X J, HUANG C C, MAO H Y, et al. Establishment and phenotypic validation of mouse models of endometriosis fibrosis [J]. *Chin J Vet Med*, 2023, 59(10): 22–30.
- [16] 时光, 赵瑞华. 啮齿类动物子宫内膜异位症模型的研究进展 [J]. *实验动物科学*, 2020, 37(3): 73–77.
- SHI G, ZHAO R H. Research advance of rodent animal endometriosis models [J]. *Lab Anim Sci*, 2020, 37(3): 73–77.
- [17] 毕艳丽, 倪喆鑫, 李溪, 等. 子宫内膜异位症纤维化小鼠模型构建方法及其应用 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(4): 447–454.
- BI Y L, NI Z X, LI X, et al. Establishment and application of a mouse model of endometriosis with fibrosis [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(4): 447–454.
- [18] 纪莲, 马铁, 刘冬妍. 子宫内膜异位症大鼠模型研究进展 [J]. *实验动物与比较医学*, 2019, 39(1): 72–76.
- JI L, MA T, LIU D Y. Research advances in rat model of endometriosis [J]. *Lab Anim Comp Med*, 2019, 39(1): 72–76.
- [19] HAYASHI S, NAKAMURA T, MOTOOKA Y, et al. Novel ovarian endometriosis model causes infertility via iron-mediated oxidative stress in mice [J]. *Redox Biol*, 2020, 37: 101726.
- [20] 马平川, 何宏月, 王芳, 等. 上皮间质转化相关蛋白 E-cadherin、N-cadherin 及 Snail 在子宫内膜异位症相关卵巢癌的表达及意义 [J]. *实用妇产科杂志*, 2016, 32(3): 211–215.
- MA P C, HE H Y, WANG F, et al. Expression and significance of epithelial-mesenchymal transformation related protein E-cadherin, N-cadherin and snail in endometriosis-associated ovarian cancer [J]. *J Pract Obstet Gynecol*, 2016, 32(3): 211–215.
- [21] 庄梦斐, 李盼盼, 丁楠, 等. 温经汤对大鼠子宫内膜异位症 SPARC 介导的上皮-间质转化的影响 [J]. *上海中医药杂志*, 2024, 58(4): 9–18.
- ZHUANG M F, LI P P, DING N, et al. Effect of Wenjing Decoction on SPARC mediated epithelial-mesenchymal transformation in rats with endometriosis [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med*, 2024, 58(4): 9–18.
- [22] 凌静, 甄玉花, 张明子, 等. Wnt/ β -catenin 通路调控子宫内膜异位症、子宫腺肌病上皮间质转化和中药干预策略及机制 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2022, 31(15): 2181–2186.
- LING J, ZHEN Y H, ZHANG M Z, et al. Wnt/ β -catenin pathway regulates epithelial-mesenchymal transition of endometriosis and adenomyosis and intervention strategy and mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Mod J Integr Tradit Chin West Med*, 2022, 31(15): 2181–2186.
- [23] 钱文艳, 邹素芳. 上皮间质转化在子宫内膜异位症发病机制中的研究进展 [J]. *现代妇产科进展*, 2015, 24(4): 306–307.
- QIAN W Y, WU S F. Research progress of epithelial-mesenchymal transition in the pathogenesis of endometriosis [J]. *Prog Obstet Gynecol*, 2015, 24(4): 306–307.
- [24] 钱文艳, 江雯波, 朱艳, 等. JARID2、E-cadherin 在卵巢子宫内膜异位症组织中的表达及意义 [J]. *海南医学*, 2019, 30(16): 2095–2098.
- QIAN W Y, JIANG W B, ZHU Y, et al. Expression and significance of JARID2 and E-cadherin in the ovarian endometriosis tissues [J]. *Hainan Med J*, 2019, 30(16): 2095–2098.
- [25] GARCÍA-SOLARES J, DOLMANS M M, SQUIFFLET J L, et al. Invasion of human deep nodular endometriotic lesions is associated with collective cell migration and nerve development [J]. *Fertil Steril*, 2018, 110(7): 1318–1327.
- [26] KAPOOR R, STRATOPOULOU C A, DOLMANS M M. Pathogenesis of endometriosis: new insights into prospective therapies [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11700.
- [27] WANG Y, NICHOLAS K, SHIH I M. The origin and pathogenesis of endometriosis [J]. *Annu Rev Pathol*, 2020, 15: 71–95.
- [28] 郑春兰, 王文文, 何政霞, 等. PCNA 在子宫内膜癌组织中的表达及临床意义 [J]. *河南医学研究*, 2024, 33(4): 577–582.
- ZHENG C L, WANG W W, HE Z X, et al. Expression of PCNA in uterine corpus endometrial carcinoma and its clinical significance [J]. *Henan Med Res*, 2024, 33(4): 577–582.
- [29] 陈雨诗, 朱广辉, 董建新, 等. 少腹逐瘀汤对子宫内膜异位症模型大鼠在位内膜增殖、凋亡及血管生成的影响 [J]. *东南大学学报(医学版)*, 2017, 36(2): 142–148.
- CHEN Y S, ZHU G H, DONG J X, et al. Effects of Shao Fu Zhu Yu Decoction on proliferation, apoptosis and angiogenesis in eutopic endometrium of rat endometriosis model [J]. *J Southeast Univ (Med Sci Ed)*, 2017, 36(2): 142–148.
- [30] 卢建军, 戴晓怡, 李响, 等. 萝卜硫素对子宫内膜异位症

模型大鼠在位内膜增殖、血管生成及 JAK2/STAT3 信号通路的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(11): 1297-1301, 1307.

LU J J, DAI X Y, LI X, et al. Effect of sulforaphane on eutopic endometrial proliferation, angiogenesis and JAK2/STAT3 signaling pathway in rat model of endometriosis [J]. Chin J Immunol, 2021, 37(11): 1297-1301, 1307.

[31] 潘小虹, 邵敏芳, 王露玉, 等. 桂枝茯苓胶囊通过 MAPK 信号通路介导 T 淋巴细胞下调 ICAM-1、HE4 表达抑制子宫肌瘤细胞增殖、迁移和侵袭 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(22): 2305-2310.

PAN X H, SHAO M F, WANG L Y, et al. Guizhi Fuling Capsule mediated a down-regulation of ICAM-1 and HE4 expressions of T lymphocytes through MAPK signaling pathway for suppressing the proliferation, migration and invasion of uterine fibroids [J]. Chin J Hosp Pharm, 2021, 41(22): 2305-2310.

[32] 夏伟兰, 张广亮, 刘志勤. eIF4E 和 ki67 在子宫内膜异位症中的表达及其临床意义 [J]. 分子影像学杂志, 2014, 37(4): 225-228.

XIA W L, ZHANG G L, LIU Z Q. The expression and clinical significance of eIF4E and ki67 in patients with endometriosis [J]. J Mol Imag, 2014, 37(4): 225-228.

[33] 王芳, 陈华, 商丽红, 等. U0126 对子宫内膜异位症大鼠 MEK/ERK/NF- κ B 通路及增殖侵袭的影响 [J]. 山东大学学报(医学版), 2021, 59(9): 148-154.

WANG F, CHEN H, SHANG L H, et al. Effects of U0126 on MEK/ERK/NF- κ B pathway, proliferation and invasion in rats with endometriosis [J]. J Shandong Univ (Health Sci), 2021, 59(9): 148-154.

[34] INTERDONATO L, MARINO Y, D' AMICO R, et al. Modulation of the proliferative pathway, neuroinflammation and pain in endometriosis [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(14): 11741.

[收稿日期] 2024-12-11

《中国实验动物学报》稿约

国内刊号 CN 11-2986/Q 国际刊号 ISSN 1005-4847 邮局代号 2-748

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究快报和进展与综述。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》(北大核心)等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/>
期待您的来稿!